

課題番号 20

上皮系皮膚がんと間葉系皮膚繊維肉腫の紫外線による発症を異なる DNA ポリメラーゼが抑制するメカニズムの研究

[1] 組織

代表者：横井 雅幸
(神戸大学
バイオシグナル総合研究センター)

対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

本研究は、紫外線で誘発された DNA 損傷による複製フォーク進行阻害への対抗機構として、発生由来の異なる皮膚組織で異なる DNA ポリメラーゼが関与する分子メカニズムの解明を目的としている。皮膚は、紫外線をはじめとした環境由来の因子による DNA 損傷を最も受けやすい組織の一つである。紫外線で誘発される DNA 損傷は主要な DNA 修復機構であるヌクレオチド除去修復の対象となるが、修復前に DNA 複製フォークが損傷箇所には到達すると複製フォークの進行阻害が起こる。このような DNA 複製異常は突然変異等のゲノム不安定性や細胞死を引き起こすことから、哺乳類細胞においては発がんや老化促進の原因の一つであり、複製フォークの進行阻害を回避する損傷乗り越え合成 (translesion synthesis) が重要となる。ヒトでは、色素性乾皮症バリエーション群の責任遺伝子産物である DNA ポリメラーゼ・イータ (Pol η) が、紫外線で生じる主要な DNA 損傷であるシクロブタン型ピリミジン二量体 (CPD) を単独で効率よく正確に乗り越えて DNA 合成を行える唯一の酵素である。一方、哺乳類には Pol η の構造的パラログである Pol θ が同定されているものの、紫外線で生じる DNA 損傷への防御的役割については不明な点が多い。

代表者は、遺伝子改変マウスを用いた紫外線誘発皮膚がん実験により、ヒトと同様に Pol η が皮膚表皮における突然変異抑制と発がん抑制に重要であることを示すと同時に、皮膚真皮においては Pol θ が突然変異と皮膚腫瘍の発生を抑制することを見出した (Ohkuma, Yokoi, et al M.C.B., 2006)。このような

DNA ポリメラーゼの機能分担は、体内環境の異なる組織・細胞で生じる DNA 損傷の多様化に応じて、適切な DNA ポリメラーゼを選択し、突然変異や細胞老化、細胞死などを防ぐ機構として重要である可能性を含んでいる。

このように高度な使い分けを可能にしている仕組みの詳細は不明だが、損傷乗り越え合成で働く DNA ポリメラーゼのユビキチン-プロテアソーム系による安定性制御の関わりを示す結果を代表者は得ている。異なる皮膚組織での DNA ポリメラーゼの制御機構を解明する糸口を見出すため、昨年度までの安井加齢研フェローとの共同研究で新たに見出した Pol η と脱ユビキチン化酵素との相互作用の生理的意義の解明を目指した。

研究打ち合わせ等の概要として、東北大学加齢医学研究所の安井明加齢研フェローおよび研究室のメンバーである菅野新一郎講師とは新規データに関する議論を主にメールや学会参加時に行い、研究全体を俯瞰した議論を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

前年度までに Pol η と相互作用する因子として新規に脱ユビキチン化酵素 USP11 を同定し (図 1)、Pol η の天然変性領域に相互作用部位のあることを明らかにした。

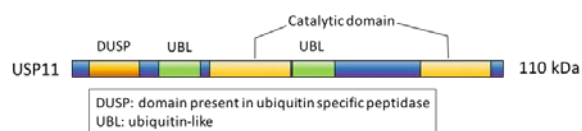


図 1 : USP11 の構造的特徴

複製型 DNA ポリメラーゼのアクセサリタンパク質である PCNA のユビキチン化-脱ユビキチン化の調節は、損傷乗り越え合成において、複製型 DNA ポリメラーゼと Pol η や Pol θ などの損傷乗り越え型 DNA ポリメラーゼとの切り替え制御に重要であることが示されている。一方、Pol η や Pol θ のユビキチン化は、PCNA との直接結合の解消やプロテアソーム依

存的なタンパク質分解を促進することが報告されている。先行研究で明らかにした、紫外線誘発後に異なる皮膚組織で Polη タンパク質レベルの分解速度に違いがある現象に USP11 による Polη の脱ユビキチン化が関連している可能性を検討するため、特異的 siRNA による USP11 のノックダウン実験を行った。その結果、siRNA の種類によって効果に差はあるものの、USP11 のノックダウンと相関するように内在性 Polη タンパク質の低下が認められた (図2)。

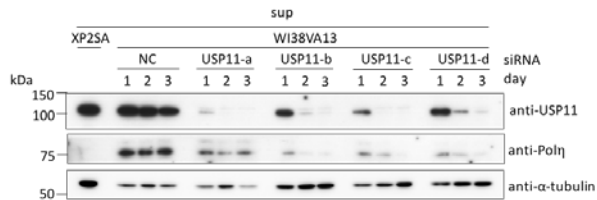


図2 : USP11 のノックダウンによる Polη の不安定化

この結果は、USP11 が内在性 Polη のユビキチン化-プロテアソーム分解に拮抗する可能性を強く示しており、紫外線で誘発される DNA 損傷の乗り越え合成で Polη のリサイクルが USP11 により制御されていると考えられる (図3)。

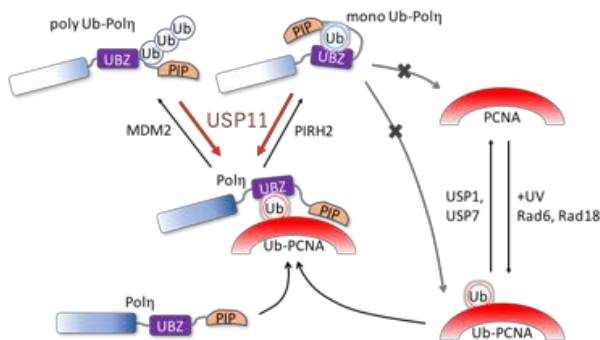


図3 : USP11 による Polη の脱ユビキチン化モデル

(3-2) 波及効果と発展性など

組織・細胞を取り巻く環境はさまざま、それに応じて生じる DNA 損傷の種類や量なども多様である。代表者が見出した、発生学的に異なる皮膚組織で異なる損傷乗り越え合成が突然変異や皮膚腫瘍の抑制に重要であるという知見は、哺乳類細胞に損傷乗り越え合成活性を示す酵素が複数種類備わっている意義を明らかにする上で重要な手掛かりになると考える。その上で、USP11 が Polη の安定性に関わることが示された本研究結果は重要である。

また、DNA 損傷部位で複製型 DNA ポリメラーゼが停止して起きる PCNA のユビキチン化状態は、USP1 あるいは USP7 により脱ユビキチン化され解消される (図3)。USP11 が Polη との結合を介してユビキチン化 PCNA の脱ユビキチン化を行い、損傷

乗り越え合成の根幹的な制御に関わる可能性もある。

一方、USP11 は DNA 二重鎖切断 (DSB) の修復機構である相同組換えにおいても、脱ユビキチン化機能を介して制御的な役割を果たすことが報告されている。損傷乗り越え合成を行う Polη も、相同組換えで起こる修復合成を担うことが報告されていることから、相同組換えでの Polη の機能と USP11 との関係性を明らかにすることは、DSB の修復機構の解明につながることを期待される。

このような研究が発展すれば、DNA 損傷に起因する突然変異の発症メカニズムを組織レベルで統括・制御する機構の解明へとつながると期待される。

[4] 成果資料

現時点で、研究成果は未発表である。